

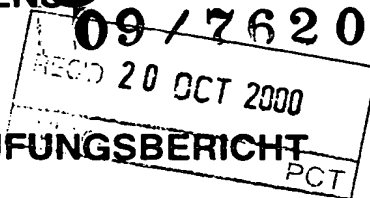
T 15

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>0817/000006</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> <span style="float: right; font-size: small;">siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)</span>	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP99/05467</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>30/07/1999</b>	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) <b>05/08/1998</b>
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <b>C12N15/53</b>		
Anmelder <b>SUNGENE GMBH &amp; CO.KGAA et al.</b>		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.

2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 8 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 3 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  <b>24/02/2000</b>	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  <b>18. 10. 00</b>
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  <div style="display: flex; align-items: center;"> <div>             Europäisches Patentamt              D-80298 München              Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d              Fax: +49 89 2399 - 4465           </div> </div>	Bevollmächtigter Bediensteter  <b>Giebeler, K</b>  Tel. Nr. +49 89 2399 8546



# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/05467

## I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

### Beschreibung, Seiten:

1-48                      ursprüngliche Fassung

### Patentansprüche, Nr.:

1-22                      eingegangen am                      25/09/2000    mit Schreiben vom                      25/09/2000

### Zeichnungen, Blätter:

1/11-11/11                      ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,                      Seiten:
- ☐ Ansprüche,                      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,                      Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

## V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

### 1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-17, 19-22
	Nein: Ansprüche	18
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-22
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-22
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen**

**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

**siehe Beiblatt**

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: LANGE B M ET AL: P. N. A. S. USA, (1998 MAR 3) 95 (5) 2100-4.  
D2: MANDEL A. ET AL.: PLANT JOURNAL, Bd. 9, Nr. 5, 1996, Seiten 649-658  
D3: EP-A-0 723 017  
D4: WO 97 27285 A  
D5: WO 98 06862 A  
D6: LOIS L M ET AL: P. N. A. S. USA (1998 MAR 3) 95 (5) 2105-10  
D7: SPRENGER G A ET AL: P. N. A. S. USA (1997 NOV 25) 94 (24) 12857-62  
D8: KELLER ET AL: EUROP. J. BIOCHEM., Bd. 251, Nr. 1/02, Seite 413-417  
D9: WO 99 11757 A, 11. März 1999  
D10: DE 197 52 700 A, 2. Juni 1999

2. Diesem Bericht liegt die Annahme zugrunde, daß alle Ansprüche die Priorität des Anmeldetags des Prioritätsdokuments genießen. Sollte sich später herausstellen, daß dies nicht zutrifft, so würden die im internationalen Recherchenbericht angegebenen Dokumente D9 und D10 relevant werden.

3. Neuheit

Anspruch 18 mangelt es an Neuheit gegenüber Arabidopsis Pflanzen, welche die genannte Expressionscassette natürlicherweise enthalten (siehe D2).

Der Begriff "transformiert" sagt lediglich aus, daß die Pflanze das Produkt eines Transformationsverfahrens ist, ohne jedoch ein klares, unterscheidendes Merkmal zu implizieren und damit die Neuheit herstellen zu können.

4. Erfinderische Tätigkeit

Die vorliegende Anmeldung erfüllt nicht das in Artikel 33(3) PCT genannte Kriterium, weil der Gegenstand der Ansprüche 1-17 und 19-22 nicht auf einer

erfinderischen Tätigkeit beruht.

- 4.1. Das Dokument D1 offenbart die Klonierung der 1-Deoxy-D-Xylose-5-Phosphat Synthase (DOXS), welches die erste Reaktion des Mevalonat-unabhängigen Syntheseweges von Isopentenylpyrophosphat (IPP) katalysiert, aus der Pflanze *Mentha x piperita*. Das Dokument schlägt außerdem die sich dadurch anbietende transgene Manipulation der pflanzlichen Isoprenoid Biosynthese vor, sowie deren Verwendung beim Design von Herbiziden (siehe Seite 2104, letzter Absatz).

Hiervon unterscheidet sich der Gegenstand der Ansprüche 1, 2 und 9 lediglich dadurch, daß spezifiziert wird, welche Isoprenoide von den transgenen Pflanzen in erhöhtem Maße gebildet werden, und zwar Tocopherol, Vitamin K, Chlorophyll und/oder Carotinoide. Es wäre dem Fachmann aber aufgrund allgemeinem Fachwissen bekannt gewesen, daß diese Isoprenoide in Pflanzen aus IPP gebildet werden. Folglich mangelt es den Ansprüchen 1, 2 und 9 an einer erfinderischen Tätigkeit.

- 4.2. Es wird außerdem darauf hingewiesen, daß die Ansprüche 1, 2, und 9 auch gegenüber D4 nicht als erfinderische angesehen werden. D4 offenbart die Verwendung einer DNA-Sequenz, die für das Enzym HPPD kodiert, zur Herstellung von Pflanzen mit erhöhtem Vitamin E und Carotinoid-Gehalt. Außerdem wird HPPD als Ansatzpunkt für Herbizide vorgeschlagen. Die Gegenstände der Ansprüche 1, 2 und 9 unterscheiden sich hiervon dadurch, daß statt HPPD das Enzym DOXS verwendet wird. Es wäre für den Fachmann aber im Hinblick auf D1 offensichtlich gewesen, daß alternativ zur HPPD auch das DOXS-Gen verwendet werden könnte. Zwar läßt sich nie mit 100% Sicherheit voraussagen, ob die Einführung eines bestimmten Gens die gewünschte Wirkung zur Folge hat, jedoch hätte der Fachmann im vorliegenden Fall im Hinblick auf den Stand der Technik eine angemessene Erfolgserwartung gehabt, daß die Verwendung des DOXS-Gens tatsächlich zur Erhöhung des Tocopherol-, Vitamin K-, Chlorophyll- und/oder Carotinoid-Gehalts in Pflanzen führen würde.

- 4.3. Die Ansprüche 3-8, 10-12 und 14-16 beziehen sich auf Verwendungen bzw. Verfahren, bei denen das DOXS-Gen mit dem Gen, das für die p-Hydroxyphenylpyruvat Dioxygenase (HPPD) kodiert und/oder dem Gen, das für

die Geranylgeranyl-Pyrophosphat Oxidoreduktase (GGPPOR) kodiert, kombiniert wird. Hierin kann jedoch keine erfinderische Tätigkeit gesehen werden, da die Funktion und Wirkungsweise dieser Enzyme aus dem Stand der Technik bekannt war, siehe D4 bzw. D8.

- 4.4. In dem Verfahren nach Anspruch 13 wird das Arabidopsis oder E. coli DOXS-Gen verwendet. Es wäre aber für den Fachmann naheliegend gewesen, die aus D2, D6 und D7 bekannten DOXS Gene aus Arabidopsis und E. coli in gleicher Weise zu verwenden wie das entsprechende, in D1 vorgeschlagene Gen aus Mentha. Folglich mangelt es auch den Ansprüchen 17-22 (sofern sie neu sind) an erfinderischer Tätigkeit.
- 4.5. Die Ansprüche 20 und 21 sind außerdem deshalb nicht erfinderisch, weil es auch im Hinblick auf D3 naheliegend gewesen wäre, die aus D1 bekannte Transketolase zur Identifizierung von Inhibitoren zu verwenden.
- 4.6. Vom Anmelder wurde argumentiert, daß eine erfinderische Tätigkeit der beanspruchten Gegenstände deshalb gegeben sei, weil zwischen dem überexprimierten Gen und dem gewünschten Endprodukt zahlreiche Biosynthesestufen zu durchlaufen wären und es aufgrund vieler Stoffwechselabflußwege weder vorhersehbar noch mit angemessener Erfolgserwartung zu erwarten wäre, daß die Überexpression zu einer Erhöhung führe. Aus vielen (nicht näher bezeichneten) Arbeiten sei bekannt, daß sogar die Überexpression von sehr nahen Biosynthesegenen aufgrund verschiedener Regulationsmechanismen nicht automatisch zur Erhöhung eines gewünschten Endproduktes führe.

Hierzu ist vor allem zu sagen, daß die Anmeldung selbst lediglich zeigt, daß die Überexpression von DOXS und ggf. HPPD und/oder GGPPOR in Raps zu einer Erhöhung der  $\alpha$ -Tocopherolkonzentration führt. Bezüglich des Chlorophyll- und Carotinoid-Gehalts kann es ebenfalls zu einer Erniedrigung kommen, wie aus Tabelle 2 auf Seite 33 der Beschreibung hervorgeht.

Würde man der (nicht belegten) Argumentation des Anmelders folgen, so müßte man davon ausgehen, daß es lediglich zu einer Erhöhung des  $\alpha$ -Tocopherol-

Gehalts, nicht jedoch des Vitamin K-, Chlorophyll- und Carotinoid-Gehalts kommt. Eine erfinderische Tätigkeit kann aber grundsätzlich nur dann aufgrund eines vom Anmelder geltend gemachten überraschenden Effekts anerkannt werden, wenn glaubhaft gemacht wurde, daß diese Effekt auch tatsächlich über den gesamten beanspruchten Bereich besteht.

### **Zu Punkt VI**

#### **Bestimmte angeführte Unterlagen**

Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

Anmelde Nr. Patent Nr.	Veröffentlichungsdatum (Tag/Monat/Jahr)	Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	Prioritätsdatum (zu Recht beansprucht) (Tag/Monat/Jahr)
WO 99 52938 A	21.10.1999	13.04.1999	14.04.1998

### **Zu Punkt VIII**

#### **Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

5. Die Anmeldung erfüllt nicht die Erfordernisse des Artikels 6 PCT, weil die Ansprüche nicht klar sind.
- 5.1. Der in den Ansprüchen 2, 4, 6, 8-12 und 22 verwendete Ausdruck "hybridisierende DNA-Sequenz" ist ohne Angabe der genauen Hybridisierungsbedingungen vage und unklar und läßt den Leser über die Bedeutung des betreffenden technischen Merkmals im Ungewissen. Dies hat zur Folge, daß die Definition des Gegenstands der nicht klar ist (Artikel 6 PCT).

Die Ansprüche 9-12 und 22 sind dabei besonders unklar, weil in diesen Ansprüchen noch nicht einmal die Funktion des kodierten Proteins definiert wird. Diese Ansprüche nennen somit auch nicht die wesentlichen Merkmale der Erfindung und entsprechen nicht dem Erfordernis des Artikels 6 PCT in Verbindung mit Regel 6.3 b) PCT, daß jeder unabhängige Anspruch alle technischen Merkmale enthalten muß, die für die Definition der Erfindung wesentlich

sind.

- 5.2. Die Ansprüche 1/2, 3/4, 5/6 und 7/8 wurden zwar als getrennte, unabhängige Ansprüche abgefaßt, sie scheinen sich aber tatsächlich auf ein und denselben Gegenstand zu beziehen und unterscheiden sich voneinander offensichtlich nur durch voneinander abweichende Definitionen des Gegenstandes, für den Schutz begehrt wird. Somit sind die Ansprüche nicht knapp gefaßt. Ferner mangelt es den Ansprüchen insgesamt an Klarheit, da es aufgrund der Vielzahl unabhängiger Ansprüche schwierig ist, den Gegenstand des Schutzbegehrens zu ermitteln, und damit Dritten die Feststellung des Schutzzumfangs in unzumutbarer Weise erschwert wird. Aus diesem Grund erfüllen die Ansprüche 1-8 nicht die Erfordernisse des Artikels 6 PCT.

Außerdem enthält der Anspruch 2 (4, 6, 8) alle Merkmale des Anspruchs 1 (3, 5, 7) und ist daher nicht richtig als ein von letzterem abhängiger Anspruch formuliert (Regel 6.4 PCT).



## Patentansprüche

1. Verwendung von DNA-Sequenzen codierend für eine 1-Deoxy-D-Xy-  
5 lulose-5-Phosphat Synthase (DOXS) zur Herstellung von  
Pflanzen mit erhöhtem Tocopherol-, Vitamin K-, Chlorophyll-  
und/oder Carotinoid-Gehalt.
2. Verwendung einer DNA-Sequenz SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3  
10 oder einer mit dieser hybridisierenden DNA-Sequenz codierend  
für eine 1-Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphat Synthase (DOXS) zur  
Herstellung von Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an Tocopherolen,  
Vitamin K, Chlorophyllen und/oder Carotinoiden.
- 15 3. Verwendung von DNA-Sequenzen codierend für eine 1-Deoxy-D-Xy-  
lulose-5-Phosphat Synthase (DOXS) und codierend für eine  
p-Hydroxyphenylpyruvat Dioxygenase (HPPD) zur Herstellung von  
Pflanzen mit erhöhtem Tocopherol-, Vitamin K-, Chlorophyll-  
und/oder Carotinoid-Gehalt.
- 20 4. Verwendung einer DNA-Sequenz SEQ ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3  
und einer DNA-Sequenz SEQ-ID No. 5 oder mit diesen hybridi-  
sierende DNA-Sequenzen codierend für eine 1-Deoxy-D-Xylu-  
lose-5-Phosphat Synthase (DOXS) und eine p-Hydroxyphenylpyru-  
25 vat Dioxygenase zur Herstellung von Pflanzen mit erhöhtem  
Gehalt an Tocopherolen, Vitamin K, Chlorophyllen und/oder  
Carotinoiden.
5. Verwendung von DNA-Sequenzen codierend für eine 1-Deoxy-D-Xy-  
30 lulose-5-Phosphat Synthase (DOXS) und codierend für eine Ge-  
ranylgeranyl-Pyrophosphat Oxidoreduktase (GGPPOR) zur Her-  
stellung von Pflanzen mit erhöhtem Tocopherol-, Vitamin K-,  
Chlorophyll- und/oder Carotinoid-Gehalt.
- 35 6. Verwendung einer DNA-Sequenz SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3  
und einer DNA-Sequenz SEQ ID No. 7 oder mit diesen hybridi-  
sierende DNA-Sequenzen codierend für eine 1-Deoxy-D-Xylu-  
lose-5-Phosphat Synthase (DOXS) und eine Geranylgeranyl-Pyro-  
phosphat Oxidoreduktase (GGPPOR) zur Herstellung von Pflanzen  
40 mit erhöhtem Gehalt an Tocopherolen, Vitamin K, Chlorophyllen  
und/oder Carotinoiden.
7. Verwendung von DNA-Sequenzen codierend für eine 1-Deoxy-D-Xy-  
lulose-5-Phosphat Synthase (DOXS), codierend für eine Hydro-  
45 xyphenylpyruvat Dioxygenase (HPPD) und codierend für eine Ge-  
ranylgeranyl-Pyrophosphat Oxidoreduktase (GGPPOR) zur Her-

## 50

stellung von Pflanzen mit erhöhtem Tocopherol-, Vitamin K-, Chlorophyll- und/oder Carotinoid-Gehalt.

8. Verwendung einer DNA-Sequenz SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3,  
5 einer DNA-Sequenz SEQ-ID No. 5 und einer DNA-Sequenz SEQ-ID No. 7 oder mit diesen hybridisierende DNA-Sequenzen kodierend für eine 1-Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphat Synthase (DOXS), eine Hydroxyphenylpyruvat Dioxygenase (HPPD) und eine Geranylgeranyl-Pyrophosphat Oxidoreduktase (GGPPOR) zur Herstellung von  
10 Pflanzen mit erhöhtem Gehalt an Tocopherolen, Vitamin K, Chlorophyllen und/oder Carotinoiden.
9. Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit erhöhte Tocopherol-, Vitamin K-, Chlorophyll- und/oder Carotinoid-Gehalt,  
15 dadurch gekennzeichnet, daß eine DNA-Sequenz SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3 oder eine mit dieser hybridisierende DNA-Sequenz in Pflanzen exprimiert wird.
10. Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit erhöhtem Tocopherol-, Vitamin K-, Chlorophyll- und/oder Carotinoid-Gehalt,  
20 dadurch gekennzeichnet, daß eine DNA-Sequenz SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3 und eine DNA-Sequenz SEQ-ID No. 5 oder mit diesen hybridisierende DNA-Sequenzen in Pflanzen exprimiert werden.  
25
11. Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit erhöhtem Tocopherol-, Vitamin K-, Chlorophyll- und/oder Carotinoid-Gehalt,  
30 dadurch gekennzeichnet, daß eine DNA-Sequenz SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3 und eine DNA-Sequenz SEQ-ID No. 7 oder mit diesen hybridisierende DNA-Sequenzen in Pflanzen exprimiert werden.
12. Verfahren zur Herstellung von Pflanzen mit erhöhtem Tocopherol-, Vitamin K-, Chlorophyll- und/oder Carotinoid-Gehalt,  
35 dadurch gekennzeichnet, daß DNA-Sequenzen SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3, SEQ-ID No. 5 und SEQ-ID No. 7 oder mit diesen hybridisierende DNA-Sequenzen in Pflanzen exprimiert werden.
13. Verfahren zur Transformation einer Pflanze dadurch gekennzeichnet, daß man eine Expressionskassette enthaltend einen  
40 Promotor und eine DNA-Sequenz SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3 in eine Pflanzenzelle, in Kallusgewebe, eine ganze Pflanze oder Protoplasten von Pflanzenzellen einbringt.
- 45 14. Verfahren zur Transformation einer Pflanze dadurch gekennzeichnet, daß man eine Expressionskassette enthaltend einen Promotor und DNA-Sequenzen SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3 und

SEQ-ID No. 5 in eine Pflanzenzelle, in Kallusgewebe, eine ganze Pflanze oder Protoplasten von Pflanzenzellen einbringt.

15. Verfahren zur Transformation einer Pflanze dadurch gekennzeichnet, daß man eine Expressionskassette enthaltend einen Promotor und DNA-Sequenzen SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3 und SEQ-ID No. 7 in eine Pflanzenzelle, in Kallusgewebe, eine ganze Pflanze oder Protoplasten von Pflanzenzellen einbringt.
16. Verfahren zur Transformation einer Pflanze dadurch gekennzeichnet, daß man eine Expressionskassette enthaltend einen Promotor und DNA-Sequenzen SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3, SEQ-ID No. 5 und SEQ-ID No. 7 in eine Pflanzenzelle, in Kallusgewebe, eine ganze Pflanze oder Protoplasten von Pflanzenzellen einbringt.
17. Verfahren zur Transformation von Pflanzen gemäß Anspruch 13-16, dadurch gekennzeichnet, daß die Transformation mit Hilfe des Stammes *Agrobacterium tumefaciens*, der Elektroporation oder der particle bombardment Methode erfolgt.
18. Pflanze, transformiert mit einer Expressionskassette gemäß Anspruch 13-16.
19. Pflanze nach Anspruch <sup>18</sup>, ausgewählt aus der Gruppe Soja, Canola, Gerste, Hafer, Weizen, Raps, Mais oder Sonnenblume.
20. Verwendung der SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3 zur Herstellung eines Testsystems zur Identifizierung von Inhibitoren der DOXS.
21. Testsystem basierend auf der Expression einer Expressionskassette gemäß Anspruch 13 zur Identifizierung von Inhibitoren der DOXS.
22. Verwendung einer Pflanze enthaltend eine DNA-Sequenz SEQ-ID No. 1 oder SEQ-ID No. 3 oder eine mit dieser hybridisierende DNA-Sequenz zur Herstellung pflanzlicher und bakterieller DOXS.